

取扱説明書番号: BMMN-832-03-22011-04

Ocucell

# 正常ヒト角膜上皮細胞培養関連製品

## 製品情報

お願い: 総合取扱説明書と合わせて、使用前に必ずお読みください。

### 1. 細胞製品

| クラボウ    |           | LIFELINE |      | 仕 様        |            |                             |
|---------|-----------|----------|------|------------|------------|-----------------------------|
| 製品番号    | 製品名       | 製品番号     | 製品名  | 正常ヒト角膜上皮細胞 | 凍結<br>バイアル | 細胞数:50 万個以上<br>容 量 :およそ 1ml |
| KC-4009 | 凍結 HCEC-2 | FC-0029  | HCEC | 正常ヒト角膜上皮細胞 | 凍結<br>バイアル | 細胞数:50 万個以上<br>容 量 :およそ 1ml |

1. 凍結細胞の製品名と製品番号は、製造元と異なります。
2. 凍結細胞は、ロットにより細胞数が異なりますので、ロットの性能データをご確認ください。
3. 細胞の形状は、弊社カタログ又はウェブサイトをご参照下さい。
4. 性能と品質管理基準は、本資料の「5. 細胞の性能と品質管理基準」をご覧ください。

### 2. LIFELINE 製培地

| クラボウ       |                        | LIFELINE |                                | 仕 様   |  |
|------------|------------------------|----------|--------------------------------|---|--|
| 製品番号       | 製品名                    | 製品番号     | 製品名                            | 正常ヒト角膜上皮細胞増殖用無血清液体培地<br>下記、LCB-LM0012 と LCK-LS1057 のセット |  |
| LCC-LL0032 | OcuLife<br>Comp kit    | LL-0032  | OcuLife Medium<br>Complete kit | 正常ヒト角膜上皮細胞基礎培地<br>容量: 485ml、pH7.5±0.2                   |  |
| LCB-LM0012 | OcuLife BM             | LM-0012  | OcuLife Basal<br>Medium        | 正常ヒト角膜上皮細胞増殖用添加剤セット<br>500ml用 1本ずつ 8種類 (表2)             |  |
| LCK-LS1057 | OcuLife<br>LifeFactors | LS-1057  | OcuLife<br>LifeFactors kit     |   |  |

1. LIFELINE 製の基礎培地の容量は、各細胞によって異なります。
2. OcuLife BM は、L-グルタミン、フェノールレッド(表1)が含まれておりません。OcuLife BM を単独でご購入の方は、L-グルタミンを別途ご購入し添加する必要があります。増殖培地 OcuLife Comp kit をご購入の方は、L-グルタミンの追加購入は不要です。
3. 基礎培地の組成は非公開ですが、一部の成分濃度については弊社までお問い合わせください。
4. 増殖添加剤は十分量が入っています。必要量を培地に添加してください。
5. 保存安定性は、本資料の「4. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理」をご覧ください。

表1 LIFELINE 製培地用製品

| クラボウ       |                          | LIFELINE |                        | 仕様       |
|------------|--------------------------|----------|------------------------|----------|
| 製品番号       | 製品名                      | 製品番号     | 製品名                    |          |
| LKR-LS1031 | L-Glutamine LifeFactor K | LS-1031  | L-Glutamine LifeFactor | L-グルタミン  |
| LQR-LS1009 | Phenol Red LifeFactor    | LS-1009  | Phenol Red LifeFactor  | フェノールレッド |

表2 増殖添加剤:OcuLife LifeFactors の構成

|  | 溶液濃度        | 添加量   | 最終濃度     |
|--|-------------|-------|----------|
| ①L-グルタミン                                     | 200 mM      | 15mL  | 6mM      |
| ②BPE (製造元名:Extract P LifeFactor)             | —           | 2mL   | 0.4%V/V  |
| ③エピネフリン                                      | 1 mg/mL     | 0.5mL | 1.0 μM   |
| ④OcuFactor Lifefactor<br>(生物活性因子およびヒト血清※を含む) | —           | 1mL   | 0.2%V/V  |
| ⑤ハイドロコチゾン (Hydrocortison Hemisuccinate)      | 100 μg/mL   | 0.5mL | 100ng/mL |
| ⑥インスリン                                       | 5 mg/mL     | 0.5mL | 5 μg/mL  |
| ⑦トランスフェリン (ヒト由来※)                            | 5 mg/mL     | 0.5mL | 5 μg/mL  |
| ⑧GA(ゲンタマイシン、アンフォテリシン)                        | G: 30mg/mL  | 0.5mL | 30 μg/mL |
|  | A: 15 μg/mL |       | 15ng/mL  |

※: ヒト由来の成分については、HBV, HCV, HIV の陰性確認済みです。

### 3. 細胞培養

※総合取扱説明書「6. 培養操作」を必ず、ご参照ください。

#### 推奨方法 LIFELINE 製培地(OcuLife Comp Kit)を用いた培養系

細胞植え込み : バイアル中の細胞浮遊液は希釈せずに、5,000 個/cm<sup>2</sup> (生細胞数/培養器の底面積)の密度となるように、培養容器へ播種します。

細胞継代 : T-25 フラスコ培養の場合 培地を吸引除去後、2mL のHEPES 緩衝液で細胞層を緩やかに約30 秒間洗浄します。HEPES 緩衝液を除去後、2mLのトリプシン/EDTA 溶液で細胞層を約1分間覆います。その後、トリプシン/EDTA 溶液を0.5mL残して吸引除去します。顕微鏡で観察しながら、細胞が丸く、個々にバラバラになってくるのを確認します。

#### <注意>

顕微鏡観察の間は、トリプシン/EDTA 溶液が培養面全体にいきわたるようにフラスコを時々傾けます。約2分おきにフラスコ側面を手の平で非常に軽くたたくことで、トリプシン/EDTA 溶液が細胞コロニーに浸透し、剥がれ易くなります。

トリプシンの添加から約6-9分後(※:角膜上皮細胞の場合)、細胞のおよそ半分が剥がれたところで、フラスコ側面を強くたたくと、培養面からほぼすべての細胞が剥がれます。(フラスコを傾けて、少し残したトリプシン/EDTA 溶液で細胞層を流すようにするとうまく剥がれます。)

トリプシンの活性は室温に左右されますので処理時間、温度にご注意ください。

#### <参考>

角膜上皮細胞は5,000 個/cm<sup>2</sup>で凍結細胞を植え込むと約7日で80% コンフルエントになります。3次培養では大部分の細胞は上皮細胞様形態をもち、互いにコロニー状に集まります。最高の細胞密度を得るために、コンフルエントに近づくにつれて培地を毎日交換してください。継代培養を成功させるために、80% コンフルエント以上になる前に継代してください。一度、細胞が完全にコンフルエントになると有糸分裂がなくなります。また、細胞の増殖を停止したままにすると解凍後の培養可能継代次数が減少します。到達可能な継代次数(パッセージ数)は開始細胞密度、個々の研究者の用いる方法により変化します。

## 4. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理

表3 培地・添加剤添加剤の保存安定性

|                          | 0°C未満              | 4°C冷蔵       | 37°C以上 |
|--------------------------|--------------------|-------------|--------|
| OcuLife BM               | 凍結不可               | ラベルに記載の期日まで | 不可     |
| OcuLife LifeFactors      | -20°C:ラベルに記載の期日まで※ | 解凍後1週間      | 不可     |
| OcuLife Comp kit(添加剤混合後) | 凍結不可               | 2週間         | 不可     |

※ 再凍結は1回まで可能です。

### 品質管理

基礎培地と増殖添加剤のロット毎の組み合わせにおいて、細胞増殖性試験と無菌試験を行い、基準に適したものをお荷します。細胞増殖性試験は、弊社“正常ヒト角膜上皮細胞(製品番号:KC-4009)”を細胞密度 5,000 個/cm<sup>2</sup> の培養条件で、細胞の付着性、伸展性、有糸分裂、細胞形態の確認を行います。

## 5. 細胞の性能と品質管理基準

表4 正常ヒト角膜上皮細胞の性能

|                 |   |
|-----------------|---|
| 解凍・継代培養時の推奨播種密度 | 5,000 個/cm <sup>2</sup>                   |
| 1バイアルからの播種総面積   | 約 100cm <sup>2</sup> (T-25 フラスコ 換算で約 4 個) |
| 保証継代次数          | 4 次培養まで                                   |

## 6. 毒劇物・危険物について

該当物はありません。

## 7. 免責事項

- (1) 使用期限を経過した製品の使用、弊社指定外の培地等を用いた製品の使用、日本国外での製品の使用、製品を改変・改造しての使用、その他本取扱説明書または各製品情報の記載に従わない製品を使用された場合、および本取扱説明書または各製品情報に記載の取扱い方法以外の方法で製品を取り扱われた場合に起因するいかなる損害につきましても、弊社は一切の責任を負いません。
- (2) 洪水、豪雪、豪雨、地すべり、地震、津波、突風、竜巻等の天災地変、火災、停電、労働紛争、原材料の入手手段の停止その他の不可抗力によって生じた製品に関連するいかなる損害につきましても、弊社は一切の責任を負いません。
- (3) 製品に関連して生じた逸失利益を含む結果的損害、派生的損害、間接損害、特別損害および第三者からの請求に基づくいかなる損害につきましても、弊社は一切の責任を負いません。
- (4) 購入された製品に関して弊社が責任を負う場合においても、弊社の責任はその製品の販売金額を超えないものとします。
- (5) 購入された製品に関して、弊社への返品はお受けできません。

輸入・販売元

**KURABO**

倉敷紡績株式会社 環境メカトロニクス事業部 ライフサイエンス部

・大阪

〒572-0823 大阪府寝屋川市下木田町 14-30 クラボウ先進技術センター2F  
TEL.072-820-3079 FAX.072-820-3095

・東京

〒105-0004 東京都港区新橋 6 丁目 19-15 東京美術俱楽部ビルディング 6F  
TEL.03-6371-1390 FAX.03-6371-1396

URL; <https://www.kurabo.co.jp/bio/>

‘25.07 (P)